

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005年8月25日 (25.08.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/077378 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 31/593, A61P 3/02, 3/14

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/002959

(22) 国際出願日: 2005年2月17日 (17.02.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-041202 2004年2月18日 (18.02.2004) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): メルシャン株式会社 (MERCIAN CORPORATION) [JP/JP]; 〒104-8305 東京都中央区京橋1丁目5番8号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 内藤 善久 (NAITO, Yoshihisa) [JP/JP]; 〒022-0101 岩手県大船渡市三陸町越喜来字肥の田24-11 Iwate (JP). 山岸 則夫 (YAMAGISHI, Norio) [JP/JP]; 〒080-0026 北海道帯広市西16条南6丁目19-9 ファミール166202号 Hokkaido (JP). 大倉 徳太 (OKURA, Norimoto) [JP/JP]; 〒078-8822 北海道旭川市西御料2条1丁目8番13号 Hokkaido (JP).

(74) 代理人: 大家 邦久 (OHIE, Kunihisa); 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町2丁目14番6号セルバ人形町6階 大家特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

A1 (54) Title: METHOD OF PREVENTING, MEDICATING AND/OR TREATING HYPOCALCAEMIA OF DOMESTIC MAMMAL

(54) 発明の名称: 家畜哺乳動物の低カルシウム血症の予防、治療および/または処置方法

(57) Abstract: It is intended to provide a method of preventing, medicating and/or treating hypocalcaemia of a domestic mammal, in particular, bovine. More specifically speaking, a method of administering a vitamin D derivative for preventing, medicating and/or treating hypocalcaemia characterized by comprising intravaginally administering a vitamin D derivative, in particular, 1 α -hydroxyvitamin D₃ and/or 1,25-dihydroxyvitamin D₃ to a domestic mammal.

(57) 要約: 本発明は、家畜哺乳動物、特に牛の低カルシウム血症の疾患を予防、治療および/または処置する方法を提供する。具体的には、ビタミンD誘導体、特に1 α -ヒドロキシビタミンD₃および/または1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を家畜哺乳動物に経腔投与することを特徴とする低カルシウム血症の疾患を予防、治療および/または処置するビタミンD誘導体の投与方法である。

WO 2005/077378

明細書

家畜哺乳動物の低カルシウム血症の予防、治療および／または処置方法

5 技術分野

本発明は家畜動物の低カルシウム血症の予防、治療および／または処置方法に関する。さらに詳しく言えば、本発明は家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与してその低カルシウム血症を予防、治療および／または処置する方法に関するものである。

10

背景技術

乳牛における分娩性低カルシウム血症に対する予防、治療および／または処置法の一つとして一般的にビタミンD₃（以下、VD₃と略記することがある。）が使用されている。

15 VD₃は、肝臓において25-ヒドロキシビタミンD₃へ代謝され、腎臓においてさらに1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（以下、1,25-(OH)₂D₃と略記することがある。）へ代謝される。

カルシウム代謝を調節するVD₃代謝物の中でも生理学的に最も活性な1,25-(OH)₂D₃を乳牛へ投与し低カルシウム血症を予防、治療および／または処置する方法も試みられている（特開昭61-233620号公報（関連出願：米国特許第322462号）およびGast et al., J. Dairy Sci. 62巻：1009～1013頁、1979年参照）。

25 薬物の投与を膣を経由して行うことは、古代エジプト時代から知られている。前世紀には、ヒトと動物でエストロジエン、プロジェステロン、プロステグランジン、抗生物質、ノノキシノール9、メタゾン、無機化合物などの多くの物質の膣からの吸収が確認されている。

近年、牛において発情周期の調節のためにプロジェステロンを含んだ膣内挿入物が広く用いられている（特表 2001-523515 号公報（関連出願：国際公開第 99/26556 号パンフレット）および J. Dairy Sci. 70 卷:2162~2167 頁, 1987 年参照）。

5 1, 25-(OH)₂D₃は、乳牛の分娩性低カルシウム血症の予防、治療および／または処置のために、静脈、筋肉および経口投与法で用いられてきたが、その膣内投与の有効性について知見は得られていない。

発明の開示

10 本発明の課題は、家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与することにより、家畜哺乳動物の低カルシウム血症、特に牛の死亡および廃用の主要原因の一つである分娩時起立不能症等の疾病を容易に予防、治療および／または処置する方法を提供することにある。

15 本発明者らは、脂溶性ビタミンであるビタミンD、AおよびE類を牛に経膣投与しその吸収性について鋭意研究した結果、これら脂溶性ビタミン類の吸収性は一般に低いが、特定のビタミンD誘導体のみが良好に膣から容易に吸収され低カルシウム血症の疾病の予防、治療および／または処置に有効であるとの知見を得て本発明を完成した。

20 すなわち、本発明は、家畜哺乳動物にビタミンD誘導体を経膣投与することにより家畜哺乳動物、例えば牛、馬、羊、山羊、豚、犬、猫の低カルシウム血症の疾病（特に牛の起立不能症等）の予防、治療および／または処置に有用な、下記 1～15 のビタミンD誘導体の投与方法を提供するものである。

1. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の予防方法。
2. 家畜哺乳動物が牛である前記 1 に記載の低カルシウム血症の予防方法。
3. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する前記 1 または 2 に

記載の低カルシウム血症の予防方法。

4. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を予防する前記1乃至3のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。
5. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD₃である前記1乃至4のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。
6. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の治療方法。
- 10 7. 家畜哺乳動物が牛である前記6に記載の低カルシウム血症の治療方法。
8. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する前記6または7に記載の低カルシウム血症の治療方法。
9. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を治療する前記6乃至8のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の治療方法。
- 15 10. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD₃である前記6乃至9のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の治療方法。
11. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の処置方法。
- 20 12. 家畜哺乳動物が牛である前記11に記載の低カルシウム血症の処置方法。
13. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する前記11または12に記載の低カルシウム血症の処置方法。
- 25 14. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を処置する前記11乃至1

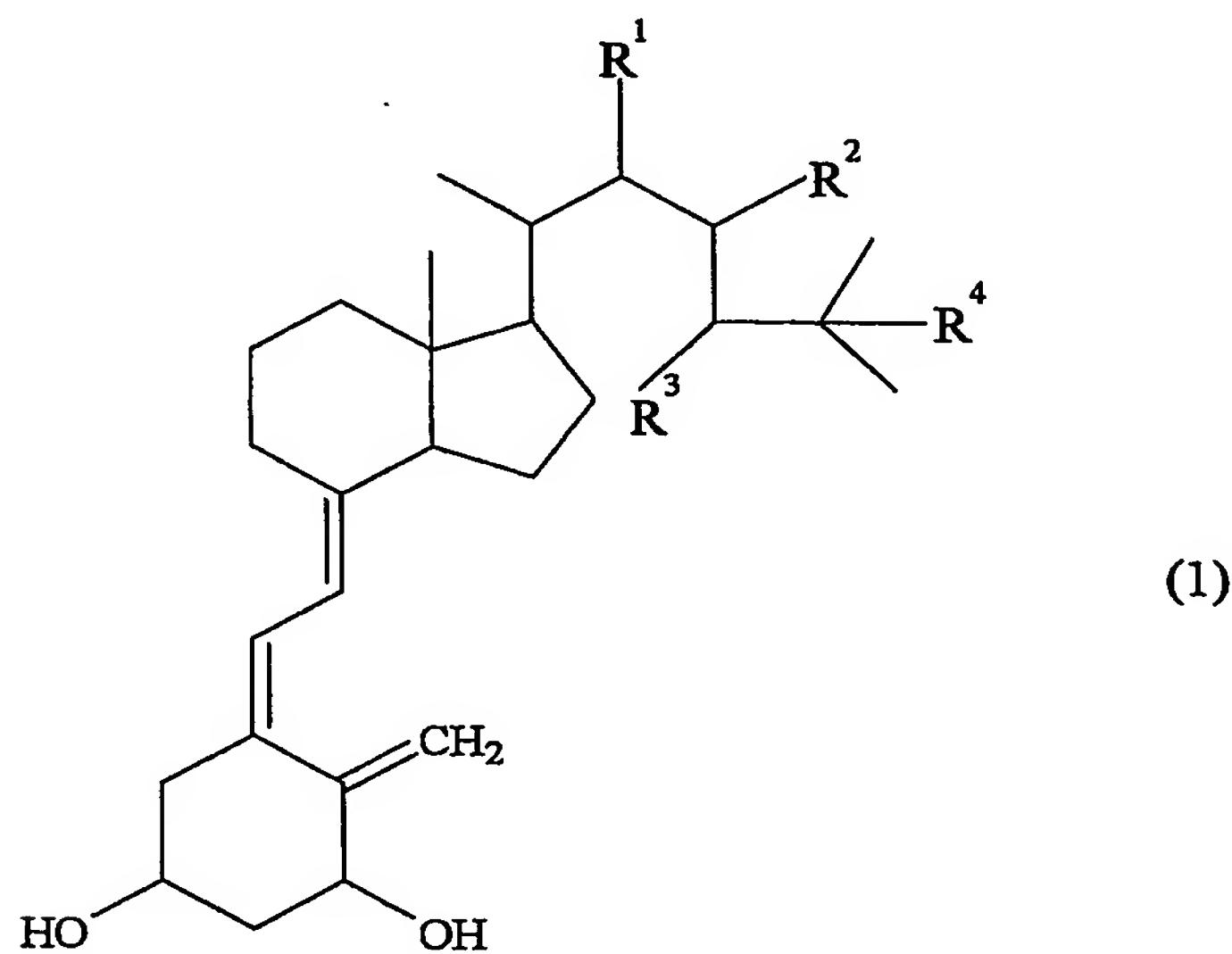
3のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

15. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD₃である前記11乃至14のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

5

発明の詳細な説明

本発明で、家畜哺乳動物の膣腔に投与するビタミンD誘導体としては、下記一般式(1)



10 (式中、R¹およびR²はそれぞれ水素原子を表わすか、またはR¹とR²とは一緒にになって二重結合を形成してもよく、R³は水素原子またはメチル基を表わし、R⁴は水素原子またはヒドロキシル基を表わす。) で示されるビタミンD誘導体が挙げられる。

上記一般式(1)で示されるビタミンD誘導体の具体例としては、R¹とR²とが一緒になって二重結合を形成しR³がメチル基を表わすカルシフェロール誘導体(ビタミンD₂誘導体)、R¹、R²およびR³がそれぞれ水素原子を表わすコレカルシフェロール誘導体(ビタミンD₃誘導体)が挙げられる。

これらビタミンD₂誘導体およびビタミンD₃誘導体の中でも、1 α -ヒドロキシビタミンD誘導体および／または1, 25-ジヒドロキシビタミンD誘導体が好ましく、その代表例として、1 α -ヒドロキシビタミンD₂、1 α -ヒドロキシビタミンD₃、1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃が挙げられる。

5 膣腔への投与は、ビタミンD誘導体を含んだ膣内挿入物を用いて行われる。膣内挿入物の形態（デリバリータイプ）としては一般に用いられている、ジェル、タブレット、マイクロスフェア、C I D Rなどを利用することができる。

10 ビタミンD誘導体の膣粘膜からの吸収は、膣腔に投与したビタミンD誘導体と数種のミネラル（カルシウム（C a）、無機リン（i P）およびマグネシウム（M g））の変化を観察することにより確認することができる。

15 例えば牛の膣腔に、エタノールの溶解した1, 25-(OH)₂D₃を体重1 k gあたり1 μ g程度の割合で膣内に投与し、エタノールを投与した対照と比較することにより確認できる。

20 1, 25-(OH)₂D₃を投与した牛は、血漿1, 25-(OH)₂D₃値が変動し、血漿C a値、血漿i P値、血漿M g値が変動する。その血漿1, 25-(OH)₂D₃値の変動を観測することにより、1, 25-(OH)₂D₃の吸収を確認することができる。

25

図面の簡単な説明

図1は、実施例1における1 α -VD₃の膣内投与による各供試牛（Cow A、Cow B）ごとの血中1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃（1, 25-(OH)₂D₃）濃度の経時的な推移を示す。

25

図2は、実施例1における1 α -VD₃の膣内投与による各供試牛（Cow A、Cow B）ごとの血中カルシウム（C a）濃度の経時的な推移を示す。

図3は、実施例1における 1α -VD₃の臍内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中無機リン(iP)濃度の経時的な推移を示す。

図4は、実施例1における 1α -VD₃の臍内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中マグネシウム(Mg)濃度の経時的な推移を示す。

5 図5は、比較例1におけるVitAD₃Eの臍内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中ビタミンA(VitA)濃度の経時的な推移を示す。

10 図6は、比較例1におけるVitAD₃Eの臍内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中ビタミンE(VitE)濃度の経時的な推移を示す。

図7は、比較例1におけるVitAD₃Eの臍内投与による各供試牛(Cow A、Cow B)ごとの血中25-ヒドロキシビタミンD₃(25-OHD₃)濃度の経時的な推移を示す。

15 図8は、実施例2において1, 25-(OH)₂D₃(n=5; ●)およびエタノール(n=1; ■)を臍内に投与された育成雌牛における血漿1, 25-(OH)₂D₃濃度の経時的変化を示す。

図9は、実施例2において1, 25-(OH)₂D₃(n=5; ●)およびエタノール(n=1; ■)を臍内に投与された育成雌牛における血漿ミネラル(Ca、iPおよびMg)濃度の経時的変化を示す。

20 図10は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を臍内に投与された育成雌牛における血漿1, 25-(OH)₂D₃濃度の経時的推移を示す。ただし、図10中、「iv」は静脈投与を示している(図11~図16においても同じ。)。

25 図11は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を臍内に投与された育成雌牛における血漿Ca濃度の経時的推移を示す。

図12は、実施例3において1, 25-(OH)₂D₃を臍内に投与された

育成雌牛における血漿 i P 濃度の経時的推移を示す。

図 13 は、実施例 3において 1, 25-(OH)₂D₃を膣内に投与された育成雌牛における血漿Mg 濃度の経時的推移を示す。

図 14 は、実施例 3において 1, 25-(OH)₂D₃を膣内に投与された
5 育成雌牛における尿Ca/Creatinine (Cr e) 値の経時的推移を示す。

図 15 は、実施例 3において 1, 25-(OH)₂D₃を膣内に投与された育成雌牛における尿 i P/Creatinine (Cr e) 値の経時的推移を示す。

図 16 は、実施例 3において 1, 25-(OH)₂D₃を膣内に投与された育成雌牛における尿Mg/Creatinine (Cr e) 値の経時的推移を示す。

10

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例および比較例を挙げて本発明を更に説明するが、本発明はこれらによってなんら限定されるものではない。下記の例において、血漿 1,

25-(OH)₂D₃濃度の測定は放射免疫キット (1,25-(OH)₂D RIA

15 kit, Immunodiagnostic Systems Limited, UK) を用いて行った。血漿および尿

中の、Ca 濃度はオルトクレゾールフタレイン コンプレクソン (O-CP

C ; orthocresolphthalein complexone) 法により、無機リン (i P) 濃度はモリブデン (Mo) 法により、マグネシウム (Mg) 濃度はキシリジルブル

ー (xylidyl blue) 法により測定した。尿中クレアチニン濃度はヤッフェ

20 (Jaffé) 法によって測定した。尿中のカルシウム (Ca)、無機リン (i P)、

およびマグネシウム (Mg) 濃度は、クレアチニン (Cr e) に対する比 (そ

れぞれ Ca/Cr e、i P/Cr e、および Mg/Cr e) で示した。

実施例 1

25 1 α-ヒドロキシビタミンD₃を牛の膣腔に投与し血液生化学的変化を観察した。

供試動物として、下記ホルスタイン種乳牛2頭（Cow AおよびCow B）を使用した。試験期間中、屋外パドックにて乾草の自由採食（自由飲水）・配合飼料2 kg／日（DM中TDN64.1%，CP13.6%，Ca0.2%，Mg0.09%，K1.39%）として飼い養った。

5 Cow A：2歳11ヶ月齢、雌、1産、卵巣摘出済み、560 kg

Cow B：2歳10ヶ月齢、雌、1産、卵巣摘出済み、580 kg

下記の供試薬剤を用いた。

1 α -ヒドロキシビタミンD₃（1 α -VD₃；日清ファルマ製、粉体）

試験内容およびスケジュールは下記のとおりとした。

10 1. 対照試験：20%エタノール4 mL腔内投与（1週間）

2. 1 α -VD₃試験：1 α -VD₃ 1 μ g/kg（体重比）を20%エタノール4 mLに溶解して腔内投与（2週間）

下記の方法で腔内投与した。

供試牛を予め排尿させ、氷水上にて上記試薬を調製後、10 mLプラスチ

15 ック・シリソジにて腔内深部に投与し、直ちに瞬間接着剤にて外陰部皮膚を閉鎖した。

各試験における採血時間は、投与直前（0 hr）と投与後0.5、1、2、3、6、12、24、48、72時間（hrs）とした。

下記の項目について血液生化学的検査を行った。

20 対照試験：1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ [1,25-(OH)₂D₃]、カルシウム(Ca)、無機リン(iP)、マグネシウム(Mg)。

1 α -VD₃試験：1,25-(OH)₂D₃、Ca、iP、Mg。

得られたデータの解析は、供試牛ごとに1 α -VD₃試験の各血液生化学的検査成績を対照試験の成績と比較し、各薬剤の腔内吸收の有無を検討することにより行った。

上記方法により1 α -VD₃の腔内投与による血中1,25-(OH)₂D₃、

Ca、iPおよびMg濃度の推移を観測した。 1α -VD₃を膣内投与した場合における濃度推移の観測成績を図1～図4に示す。

本実施例1の成績と下記比較例1の成績を比較考察すると、 1α -VD₃の膣内投与では、 1α -VD₃は膣壁より体内に吸収され、 $1,25-(OH)D_3$ へ速やかに変換されることによりCa代謝に影響を与えることが分かる。

下記比較例1のビタミンA、ビタミンD₃、ビタミンEの膣内投与では、投与した薬剤が膣壁から吸収された証拠は確認されなかった。

比較例1

10 供試薬剤、試験内容および血液生化学的検査項目を下記(1)～(3)に記載のとおりとした以外は実施例1と同様にして、ビタミンA、ビタミンD₃、ビタミンEを牛の膣腔に投与し、投与後の血液生化学的な変化を観測した。

(1) 供試薬剤

ビタミンA (VitA; 薬剤製造用原体、液体)、

15 ビタミンD₃ (VitD₃; 薬剤製造用原体、液体)、
ビタミンE (VitE; 薬剤製造用原体、液体)。

(2) 試験内容

VitAD₃E試験: 1頭当たりVitA (1000万IU) +VitD₃ (500万IU) +VitE (920IU) を20%エタノールにて8mLにメ

20 スアップして膣内投与

(3) 血液生化学的検査項目

対照試験: VitA, 25-ヒドロキシビタミンD₃ (25-OHD₃)、VitE、カルシウム (Ca)、無機リン (iP)、マグネシウム (Mg)。

VitAD₃E試験: VitA、25-OHD₃、VitE。

25 得られたデータの解析は、供試牛ごとにVitAD₃E試験の各血液生化学的検査成績を対照試験の成績と比較し、各薬剤の膣内吸収の有無を検討する

ことにより行った。

上記方法により $VitAD_3E$ の膣内投与による血中 $VitA$, $25-OH D_3$ および $VitE$ 濃度の推移を観測した。 $VitAD_3E$ を膣内投与した場合における濃度推移の観測成績を図 5～図 7 に示す。

5 本比較例 1 の成績と前記実施例 1 の成績を比較考察すると、実施例 1 の 1α - VD_3 の膣内投与では、 1α - VD_3 は膣壁より体内に吸収され、 $1, 25-(OH)_2D_3$ へ速やかに変換されることにより Ca 代謝に影響を与えることが分かるが、比較例 1 の $VitAD_3E$ の膣内投与では、投与薬剤が膣壁から吸収された証拠は確認されなかった。

10

実施例 2

牛の膣腔に投与した $1, 25-(OH)_2D_3$ の膣吸収を確認するために、 $1, 25-(OH)_2D_3$ を雌牛の膣内に投与した後の $1, 25-(OH)_2D_3$ とミネラルの血液生化学的な変化を観測した。

15 臨床的に健康な 6 頭のホルスタイン種雌牛（3～6 ケ月齢、体重 97～118 kg）と同じ囲いの中で、ミネラル摂取量が日量 $Ca 21 g$ 、 $P 13 g$ 、 $Mg 4 g$ で NRC (National Research Council) の要求量を満たす飼料（乾物としてイネ科牧草 1.56 kg、配合飼料 0.55 kg、アルファルファヘイキューブ 1.44 kg）を毎日与えて、水は自由飲水として飼い、少なくとも 1 週間 20 飼い馴らした。

5 頭の雌牛各々に、体重 1 kgあたり $1 \mu g$ の $1, 25-(OH)_2D_3$ (マルシャン (株) 製の結晶を 99% エタノールにて 1 mg/mL の濃度になるように溶解し、使用直前まで -20°C にて冷凍保存したもの) を膣内投与した。

25 膣内投与は、14 ゲージ 64 mm 長の注射用留置針の外套 (Surflo, Terumo Co. Ltd., Tokyo) とプラスチックポンプ (Top Plastic Syringe, Top Surgical

Taiwan Corporation, Taiwan) を用いて行った。

他の1頭の雌牛には、対照として99%エタノール3.0mLを投与した。

ヘパリン加血液サンプルは、投与直前(0 hr)と投与後2、6、12、24、48、72および96時間に頸静脈から採取した。

5 血液生化学値は、平均値±標準偏差として表現した。1,25-(OH)₂D₃腹内投与の効果をみるために反復測定分散分析を用い、効果が有意であった場合には0時の値と投与後のそれぞれの値をDunnett's多重比較により検定した。有意差は、P<0.05とした。

1,25-(OH)₂D₃を腹内投与した雌牛において、血漿1,25-(OH)₂D₃、Ca、iPおよびMg濃度に有意な変化が認められたが、これら変動する血漿濃度は、iPを除いてエタノール投与による影響を受けなかつた(図8および図9)。

15 図8から明らかなように、1,25-(OH)₂D₃を腹内投与した雌牛における血漿1,25-(OH)₂D₃濃度の値は、0時の値に比べ有意(b)P<0.01)な変化が認められる。

また、図9から明らかなように、1,25-(OH)₂D₃を腹内投与した雌牛における血漿ミネラル(Ca, iPおよびMg)濃度の値は、0時の値に比べ有意(a)P<0.05, b)P<0.01)な変化が認められる。

20 血漿1,25-(OH)₂D₃は、投与前(0時間)に88.3±20.3pg/mLであったものが1,25-(OH)₂D₃を投与後6時間には1967.4±1139.6pg/mLへと有意(P<0.01)に増加して高まり、その後低下した。

1,25-(OH)₂D₃投与雌牛の血漿Ca濃度は、投与前値(10.4±0.4mg/dL)に比べ投与後12~72時間で有意(P<0.01)に高く、24時間には最高値(11.96±0.7mg/dL)を示した。

25 1,25-(OH)₂D₃を投与した雌牛において観察された血漿iP濃度の変動は、エタノール投与を受けた1頭のものと同様であった。

血漿 i P 値は、0 時の値 ($7.3 \pm 0.5 \text{ mg/dL}$) と比較すると 1, 25-
(OH)₂D₃ 投与後 6 時間 ($8.1 \pm 0.8 \text{ mg/dL}$; $P < 0.05$) と 24~96
時間 ($9.1 \pm 0.7 \sim 8.6 \pm 0.6 \text{ mg/dL}$; $P < 0.01$) で有意に高かった。

血漿 Mg 値は、0 時の値 ($2.1 \pm 0.1 \text{ mg/dL}$) と比較すると、1, 25
5 (OH)₂D₃ 投与後 24 および 48 時間 (1.8 ± 0.1 および $1.8 \pm 0.1 \text{ mg/dL}$)
で有意 ($P < 0.01$) に低かった。

本結果では、1, 25- (OH)₂D₃ 投与 2 時間の雌牛にのみ血漿 1, 2
5- (OH)₂D₃ の急激な増加と高まりが観察された。

これにより、牛の臍壁からの 1, 25- (OH)₂D₃ の吸収が確認された。

10 なお、上記血漿 1, 25- (OH)₂D₃ 濃度変動の様子は、非泌乳、非妊娠の成牛に 1, 25- (OH)₂D₃ を筋注して観察した結果と類似している。
また、1, 25- (OH)₂D₃ の主な生理作用は、血漿 Ca および i P 濃度
を腸管からの吸収により増加させ高めることであるが、1, 25- (OH)₂
D₃ を臍内投与した育成雌牛における本結果は、1, 25- (OH)₂D₃ の静
15 注により血漿中の Ca および i P 値が高いレベルに導かれるのに類似してい
る。

しかしながら、本実験結果ではエタノールを投与した育成雌牛に血漿 i P
濃度の初期の低下とその後の上昇がみられた。

ウサギを用いた血漿 i P 値の同様な二相性の変化では、低リン血症はエタ
20 ノールがエタノールデヒドロゲナーゼによって触媒される代謝過程のために
初期におこり、高リン血症はその後にエタノールの代謝物であるアセトアル
デヒドによって誘導されていると考えられている。

それ故に、本実験の血漿 i P 濃度の変化から 1, 25- (OH)₂D₃ ばかり
りでなくエタノールもまた牛の臍壁を通して吸収されると考えられる。

25 成牛に 1, 25- (OH)₂D₃ を筋注した後あるいは臍内に投与した後の
低 Mg 血症の原因は明らかではないが、1, 25- (OH)₂D₃ は尿細管の

Mg再吸収を低下させることによってMgの腎排泄の増加を起こすことによると考えられる。

牛の膣上皮の厚さは、卵巣ホルモンの分泌に応答して変化すると考えられている。本実施例で用いた育成雌牛は、春機発動に達していない。それ故に、
5 1, 25-(OH)₂D₃の膣からの吸収は膣上皮の厚みの変化が無く、薄いので成牛におけるよりも安定していると考えられる。しかしながら、本実験結果は分娩性低Ca血症の予防に1, 25-(OH)₂D₃の膣内投与が充分可能であることを示している。

10 実施例3

供試動物として、3～9歳、体重616～804kgの卵巣摘出ホルスタイン雌牛5頭を使用し、1, 25-(OH)₂D₃の膣内投与ルートの用量反応テストを行った。

雌牛をしきり棒につなぎ毎日5.3kgのオオアワガエリの干し草と、0.18kgのアルファルファの干し草と、0.71kgのビートパルプペレットと1.7kgの市販の穀物ミックスを与え、DM basisによって測定し、水は自由に与えた。毎日のミネラル摂取は、カルシウム48.4g、無機リン20.2g、マグネシウム12.7gとし、これはNRC勧告を充分に超えていた。

5頭の雌牛は、それぞれ膣内用量レベルとして0.125、0.25、0.5、1.0μg/kg（体重比）、静脈注射用量レベルとして1.0μg/kg（体重比）の1, 25-(OH)₂D₃を2週間以上のインターバルで5×5のラテン方格法に従い投与された。

使用した1, 25-(OH)₂D₃（メルシャン（株）製）は結晶性粉末の形態で、99%のエタノールに200μg/mLで溶かし、使用するまで-20℃で凍結保存した。

1, 25-(OH)₂D₃0.125、0.25、0.5、1.0μg/kg（体重比）になるよ

うに 20% エタノール溶液 5 mL とした薬剤を、Split Universal Sheath (IMV Int. Co., France) を用いて直腸腔法で腔内腔に投与した。その後腔内腔から 1, 25-(OH)₂D₃ 溶液が誤って排出されるのを避けるために、陰門が接着剤で接着された。静脈内投与は、血液サンプル採取のために前もって 5 取り付けられたカニューラ (14-g a の動物用カニューラ、ニプロ医工(株)製) を用いて行なった。

ヘパリン血液サンプルは、1, 25-(OH)₂D₃ 投与の直前 (0 時間)、2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 時間後にカニューラから採取した。

10 次に、血液を直ちに遠心分離し、血漿中の 1, 25-(OH)₂D₃、カルシウム、無機リン、およびマグネシウム濃度を測定した。

1, 25-(OH)₂D₃ 0.125 および 1.0 μg/k g (体重比) で腔内投与を行い、1.0 μg/k g (体重比) で静脈投与を行なった雌牛から血液サンプルを採取すると同時に膀胱カテーテル法によって尿を採取し、尿中のクレアチニン、カルシウム、無機リン、マグネシウムの濃度を測定した。血漿および尿サンプルは分析まで -20°C で凍結保存した。

その結果、4 つのレベルの 1, 25-(OH)₂D₃ を腔内投与された雌牛の血漿中 1, 25-(OH)₂D₃、カルシウム、無機リン、マグネシウム濃度の変化は有意差があったものの、異なるレベルの 1, 25-(OH)₂D₃ を投与されたグループ同士の違いは、血漿中 1, 25-(OH)₂D₃ を除いて、有意差が無かった。同様に、1, 25-(OH)₂D₃ を静脈内投与された雌牛の、血漿中カルシウム、無機リン、マグネシウムの変化は有意差があったが、腔内投与と静脈内投与のグループの間には違いはなかった。

0.125、0.25、0.5、1.0 μg/k g (体重比) 腔内投与されたときの血漿中 25 1, 25-(OH)₂D₃ レベルは、処置後 2 時間から 24 時間までの間、0 時間 (7.4 ± 5.3、6.5 ± 1.3、8.7 ± 5.6、6.6 ± 1.6 pg/mL) に比べて有意に

上昇していた。これらは2時間でピークに達し (2219.3±812.0、3448.7±737.9、6388.5±1127.4、12315.7±2288.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 、その後減少した。0.125×0.5、0.125×1.0、0.25×0.5、0.25×1.0、0.5×1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) で1, 25-(OH)₂D₃を投与されたグループの間では有意差があった
5 (図10)。静脈内投与を受けた雌牛では血漿中1, 25-(OH)₂D₃は投与後2時間後までには膣内投与されたものと同様となり、その後同様に変化した。

膣内投与においては、0.125または0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の1, 25-(OH)₂D₃を投与された雌牛の血漿中カルシウム濃度は12から120時間の間においては、0時間 (8.9±0.5、8.9±0.4 mg/dL) と比較して有意に高く、48時間でピークに達した (11.1±0.9と11.2±0.7 mg/dL)。そして0.5または1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の1, 25-(OH)₂D₃投与の雌牛においては6から120時間の間においては、0時間 (8.9±0.2と8.8±0.7 mg/dL) より有意に高く、48時間でピークに達した (11.5±0.6と12.0±0.6 mg/dL)。1, 25-(OH)₂D₃を静脈内投与された雌牛の血漿中カルシウム濃度の変化 (0時間で8.8±0.5 mg/dL 、ピークで11.5±1.2 mg/dL) は、0.5または1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) を膣内投与された雌牛と同様であった (図11)。

0.125、0.5、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を投与された雌牛の血漿中無機リン濃度 (0時間では5.3±1.0、5.3±0.6、5.4±1.3 mg/dL) は、1, 25-(OH)₂D₃の膣内投与後24時間で有意に上昇し (それぞれ7.7±0.8、7.9±0.9、8.0±1.2 mg/dL)、24時間から120時間までの間に最高値に達した。0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を膣内投与された雌牛では、血漿中無機リンレベルは、12時間から120時間では0時間のレベル (4.7±0.6 mg/dL) と比べて有意に高かった (6.7±0.9から8.6±1.2 mg/dL)。1, 25-(OH)₂D₃を静脈内投与された雌牛の血

漿中無機リン濃度（0時間で $5.2 \pm 1.3 \text{mg/dL}$ ）の変化は、12時間で増加して（ $7.2 \pm 0.8 \text{mg/dL}$ ）、24時間から120時間（ 9.1 ± 1.6 から $9.0 \pm 1.2 \text{mg/dL}$ ）の間に頂点に達した（図12）。

臍内投与では、 $0.125, 0.25, 1.0 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を投与された雌牛の血漿中マグネシウム濃度は、それぞれの0時間での値（ $2.2 \pm 0.2, 2.0 \pm 0.2, 2.1 \pm 0.1 \text{mg/dL}$ ）と比べて、24時間から120時間の間では有意に低く（ $1.9 \pm 0.1, 1.8 \pm 0.1, 1.8 \pm 0.2$ から $1.8 \pm 0.3, 1.7 \pm 0.2, 1.7 \pm 0.4 \text{mg/dL}$ ）、 $0.5 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を投与された雌牛では、12時間から120時間の間では0時間での値（ 2.2 ± 0.2 ）と比べて有意に低かった（ 1.9 ± 0.2 から $1.7 \pm 0.2 \text{mg/dL}$ ）。1, 25-(OH)₂D₃を静脈内投与された雌牛での血漿中マグネシウム濃度の変化は（0時間では $2.2 \pm 0.2 \text{mg/dL}$ 、24時間から120時間の間では 1.9 ± 0.3 から $1.7 \pm 0.2 \text{mg/dL}$ ）、 $0.125, 0.5, 1.0 \mu\text{g/kg}$ の体重比で臍内投与された雌牛と同様であった（図13）。

体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を臍内投与されたものと静脈内投与されたもの両方の雌牛で、尿のカルシウム/クレアチニン比（Ca/Cr_e）、無機リン/クレアチニン比（iP/Cr_e）、マグネシウム/クレアチニン比（Mg/Cr_e）の値には有意な変化があった。これらの値は体重比 $0.125 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を臍内投与された雌牛では影響されなかった。体重比 0.125 または $1.0 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を臍内投与された雌牛または体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を静脈内投与された雌牛でのMg/Cr_e値はグループ間で有意差があったものの、Ca/Cr_e値とiP/Cr_e値はグループ間で有意差がなかった。

体重比 $1.0 \mu\text{g/kg}$ の1, 25-(OH)₂D₃を投与されたときの尿Ca/Cr_e値は、臍経由では24時間で有意に上昇し、静脈内経由では12時間と24時間で有意に上昇した（図14）。

体重比 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与されたときの尿 Mg/Cre 値は、投与直前の値と比較して、膣経由では 48 時間から 120 時間の間で、静脈経由では 72 時間から 120 時間の間で有意に高かった（図 15）。

5 体重比 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与されたときの尿の Mg/Cre 値は、膣経由では 6 時間から 12 時間まで、静脈経由では 6 時間で、有意に高かった（図 16）。

5 頭の雌牛の個々のバイオアベイラビリティーは 71.1、124.2、113.3、90.0、
66.5% であった。なお、バイオアベイラビリティーは $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ (体重比) の
10 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を膣内投与したものと、同じ量を静脈内投与したもの
の、血漿濃度一時間曲線の下の対応する領域 (AUC) を比較することによ
って測定され、膣内投与の AUC の静脈内投与の AUC に対する比をペ
ンタージで表した。

本結果は、 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が卵巣摘出された雌牛の膣内腔内に投与
されると、4 つの異なる用量全てについて用量比例的に膣壁から吸収され
ることを示している。また、 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が膣内腔内に投与された量
と、血漿中のカルシウム、無機リン、マグネシウム濃度の投与後の変化との
間には用量相関がなく、尿へのミネラル排出は体重比 $0.125 \mu\text{g}/\text{kg}$ の $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ を投与された場合、血漿中カルシウム濃度および無機リン
濃度の上昇と血漿中マグネシウム濃度の減少にも関わらず影響を受けず、
20 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が膣内腔に投与されたうちの約 93% が全身の循環系に入
ったものと考えられる。

経口投与では用量増加に伴う血清中カルシトリオールの AUC (血漿濃度
一時間曲線の下の対応する領域) の比例的上昇がみられないことが知られて
25 いるが (Muindi らの報告 (2002) ; Pharmacokinetics of high-dose oral
calcitriol: Results from a phase I trial of calcitriol and paclitaxel.

Clin. Pharmacol. Ther. 72:648-659.)、本結果は $1,25-(OH)_2D_3$ が膣壁から用量依存的に吸収されたことを示しているのでこの点における $1,25-(OH)_2D_3$ の膣内投与の優位性は明らかである。

1, 25-(OH)₂D₃を4つの用量レベル (30, 90, 270, 600
5 μ g) で静脈投与された雌牛は尿中カルシウム排出が増加し、それがステロイドの静脈用量とは直接関係しないことが知られているが (Hoffsis らの報告 (1979) ; The use of 1,25-dihydroxycholecalciferol in the prevention of parturient hypocalcemia in dairy cows. Bovine Practitioner 13: 88-95.)、本結果では、体重比 0.125 μ g/k g を膣内投与された雌牛では、尿中カルシウム排出量は、血漿中カルシウム濃度が上昇したにもかかわらず、有意な増加はなかった。尿中無機リンおよびマグネシウム排出の変化も尿中カルシウムについてと同様な結果を示した。これらの結果は、膣内腔への 1, 25-(OH)₂D₃投与の4つの用量のうち体重比 0.125 μ g/k g が適当であることを示している。しかし、最も低い用量レベル (体重比 0.125 μ g/k g) でも血漿中カルシウムおよびリン濃度が増加して、血漿中マグネシウムは他の用量
10 レベル同様減少した。

膣経由での 1, 25-(OH)₂D₃のバイオアベイラビリティーは今まで知られていなかった。長期の透析を受けた若い患者に 60 ng/k g という一用量のカルシトリオールを投与した後 24 時間後のバイオアベイラビリティーは、経口では 62% で、腹腔経由では 67% であることが知られている (Salusky らの報告 (1990) ; Pharmacokinetics of calcitriol in continuous ambulatory and cycling peritoneal dialysis patients. Am. J. Kidney Dis. 16:126-32.)。この報告では、腸および/または肝臓での初回通過効果 (first-pass effect) と腹膜の透析物システムがバイオアベイラビリティーを低下させたと示唆されている。本結果に示されているバイオアベイラビリティー (約 93%) は前記報告のものより明らかに高い。よって、本結果は

乳牛に 1, 25-(OH)₂D₃を投与するには膣内腔が効果的なルートであることを示している。

本結果は、膣内腔に投与された 1, 25-(OH)₂D₃は用量比例的に雌牛に吸収されることを示し、より低い用量の 1, 25-(OH)₂D₃が雌牛に投与されたときの血液および尿の成分への影響は考えられるが、膣内腔への 1, 25-(OH)₂D₃投与の用量は最も低い用量（体重比 0.125 μg/kg）が適切であることを示している。

産業上の利用可能性

10 ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与する本発明の方法によれば、第1に、医療器具を必要とせず投与が簡単であること、第2に、肝臓における初回通過効果を受けず膣からの物質の吸収が効率良く起ること、第3に、デリバリータイプが豊富でジェル、タブレット、マイクロスフェア、C I D R (controlled internal drug release: 一種のタンポン形式)などの形態を投与に利用できること、第4に、血液供給がよく発達した組織により構成された膣を利用するため速やかに吸収されることから、家畜哺乳動物、特に牛の低カルシウム血症による起立不能症等の疾病の予防、治療および/または処置が容易に行える。

請求の範囲

1. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の予防方法。

5

2. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲1に記載の低カルシウム血症の予防方法。

3. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する請求の範囲1または10に記載の低カルシウム血症の予防方法。

4. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を予防する請求の範囲1乃至3のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

15

5. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃または $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD₃である請求の範囲1乃至4のいずれか1項に記載の低カルシウム血症の予防方法。

20 6. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の治療方法。

7. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲6に記載の低カルシウム血症の治療方法。

25

8. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する請求の範囲6また

は 7 に記載の低カルシウム血症の治療方法。

9. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を治療する請求の範囲 6 乃至
5 8 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の治療方法。

10. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃ または 1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ である請求の範囲 6 乃至 9 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の治療方法。

10

11. ビタミンD誘導体を家畜哺乳動物に経膣投与することを特徴とする低カルシウム血症の処置方法。

12. 家畜哺乳動物が牛である請求の範囲 1 1 に記載の低カルシウム血症の
15 処置方法。

13. ビタミンD誘導体を含む膣内挿入物を膣腔へ投与する請求の範囲 1 1 または 1 2 に記載の低カルシウム血症の処置方法。

20 14. 膣内投与されたビタミンD誘導体が家畜哺乳動物の膣腔で吸収されその体内でカルシウム濃度を上げることにより疾病を処置する請求の範囲 1 1 乃至 1 3 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

25 15. ビタミンD誘導体が、 1α -ヒドロキシビタミンD₃ または 1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ である請求の範囲 1 1 乃至 1 4 のいずれか 1 項に記載の低カルシウム血症の処置方法。

図 1

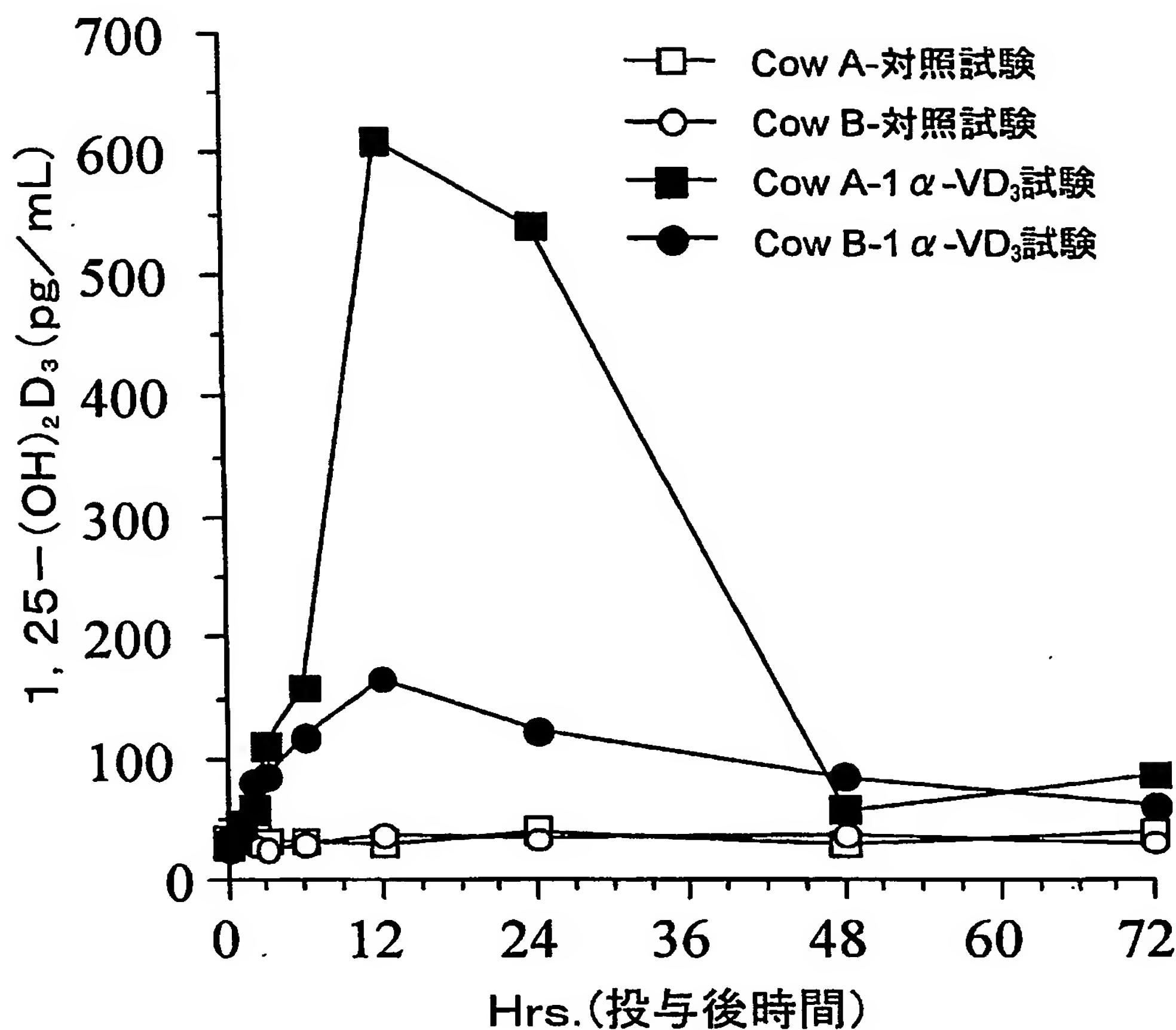


図 2

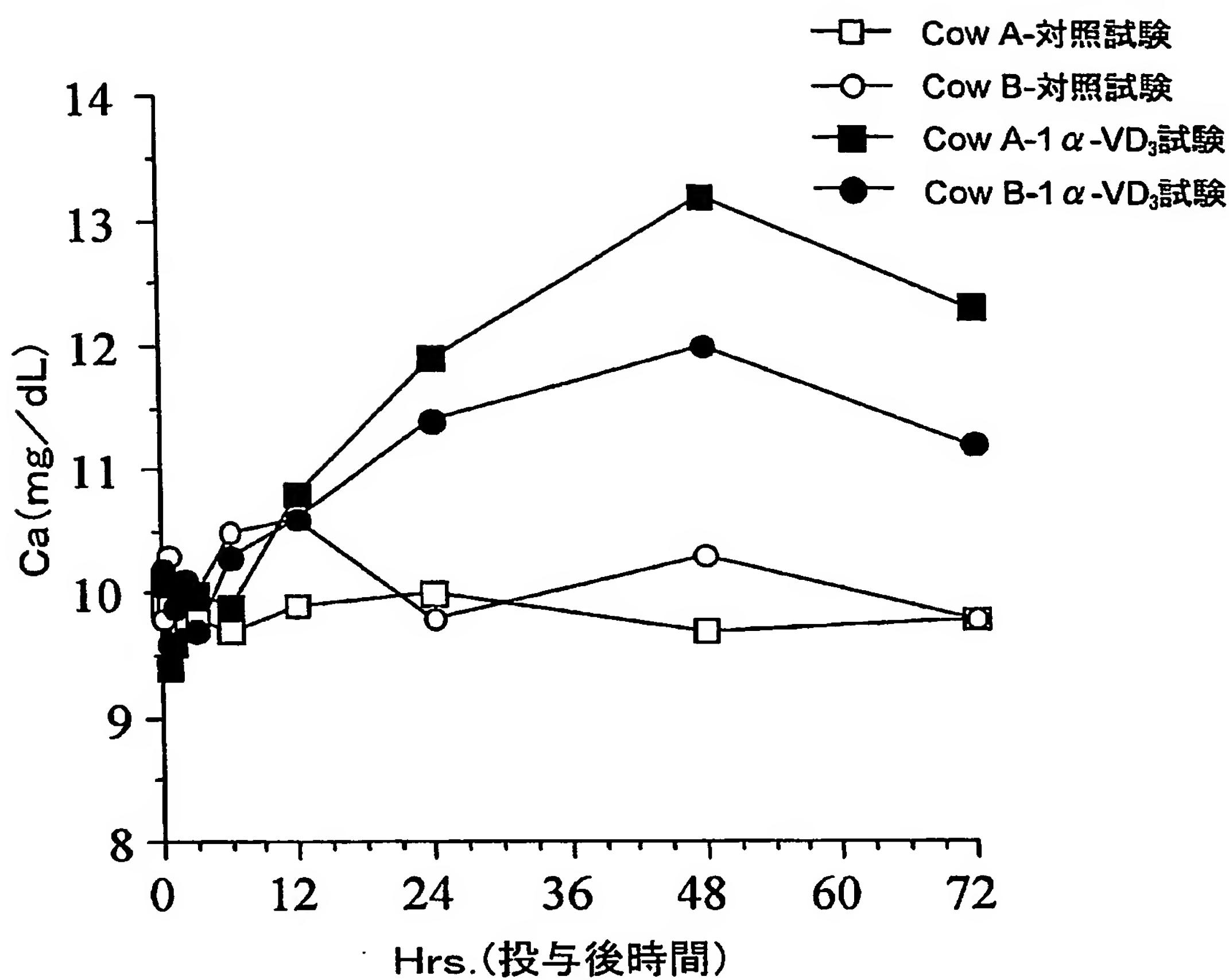


図 3

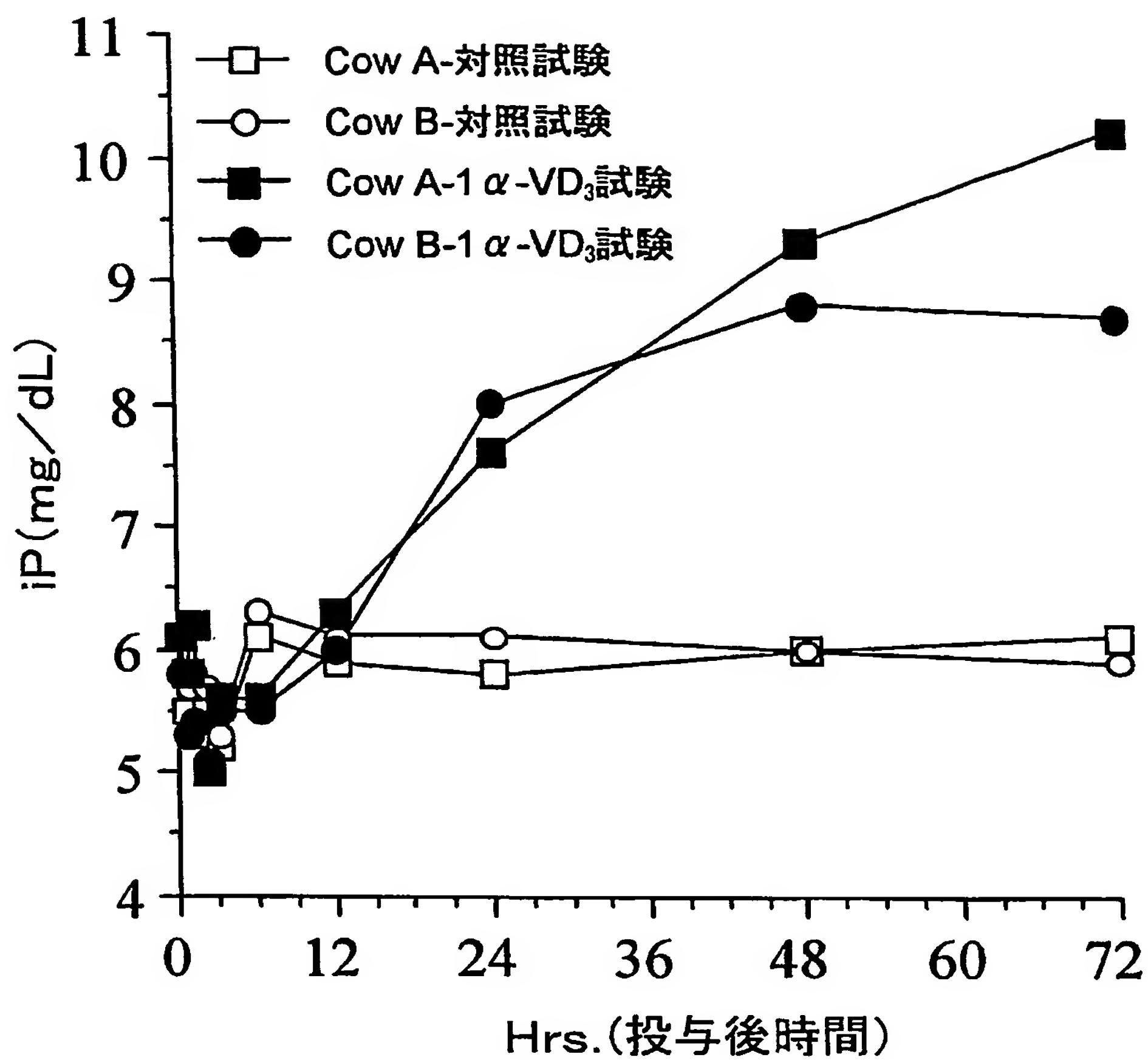


図 4

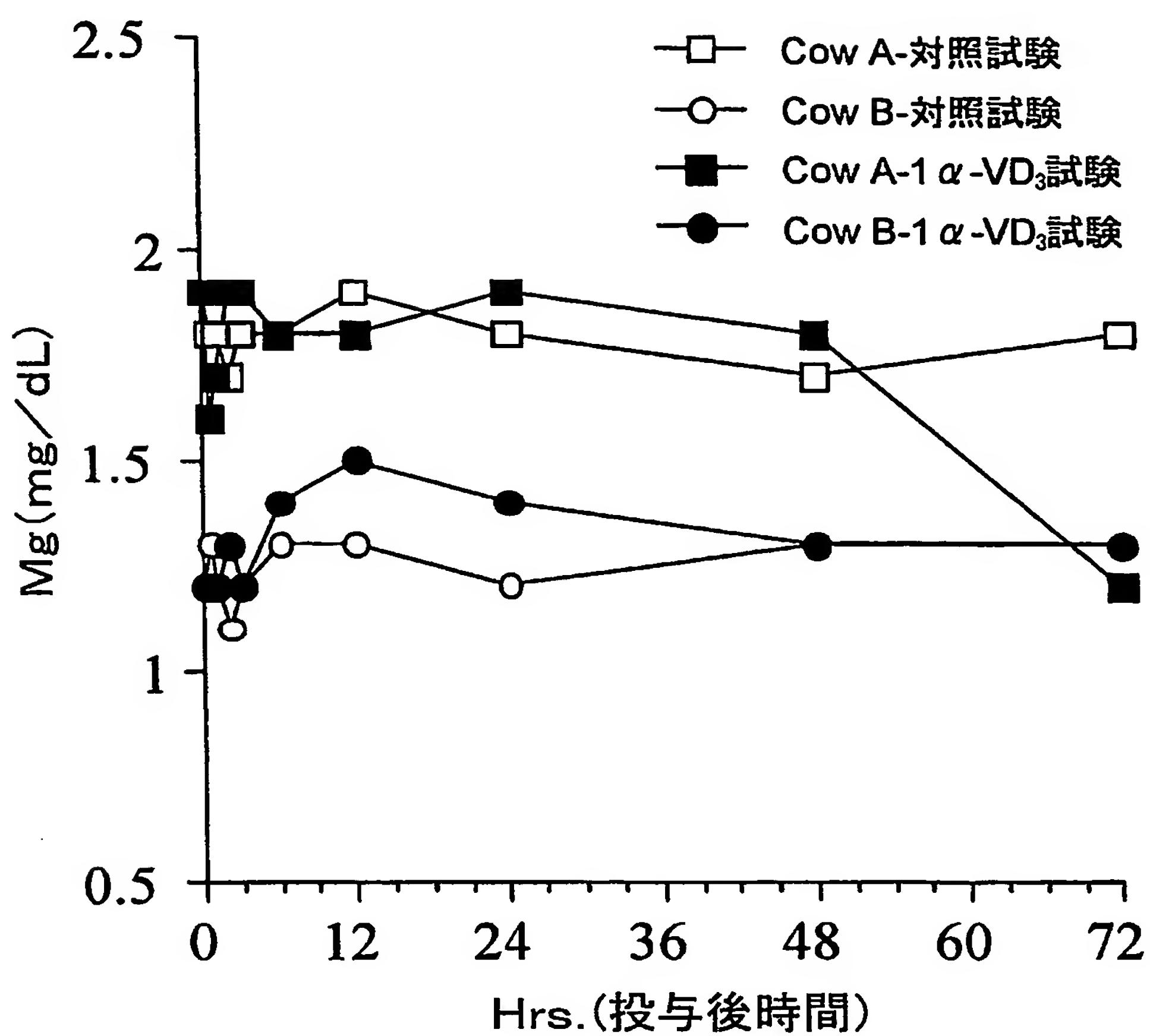


図 5

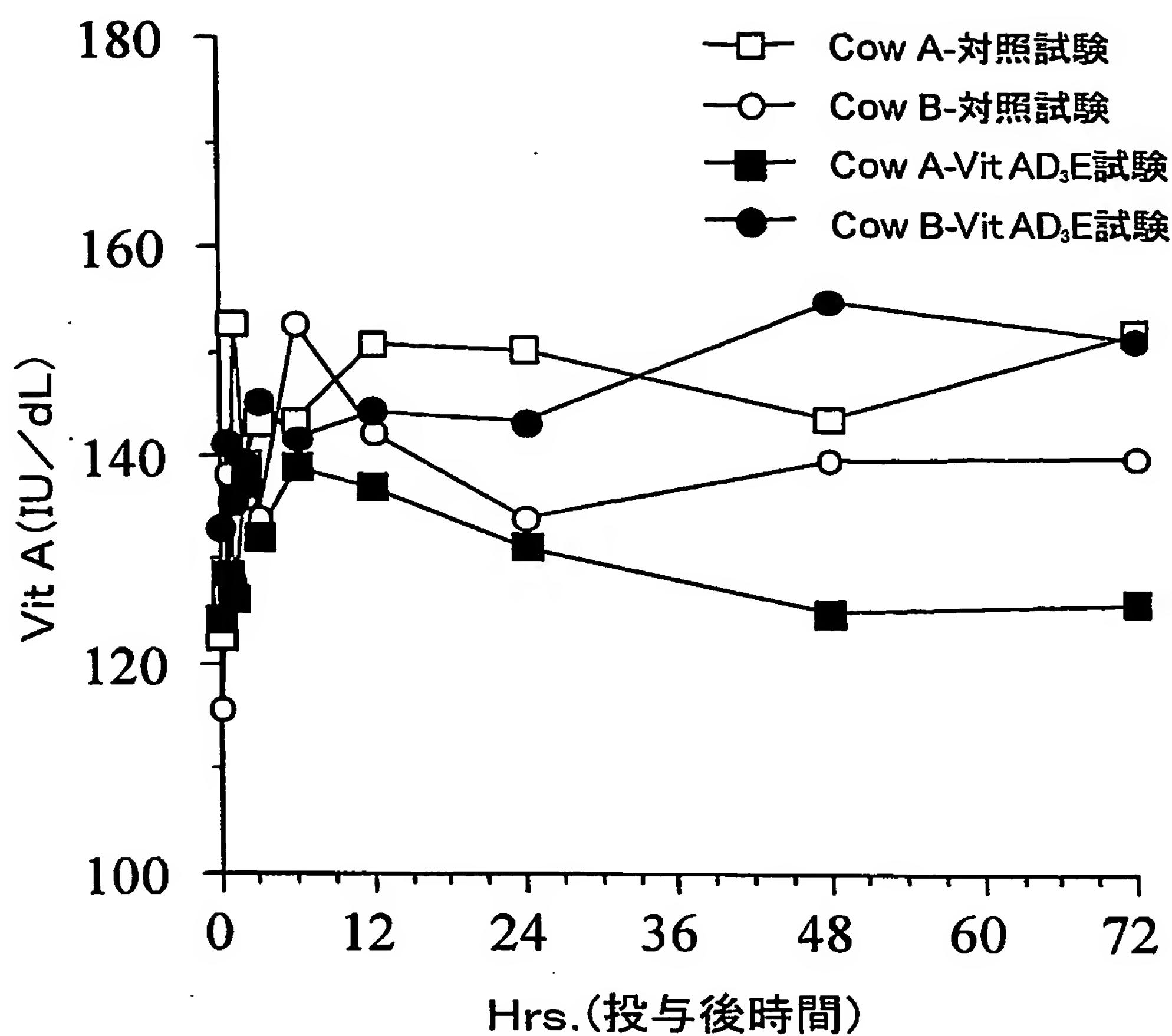


図 6

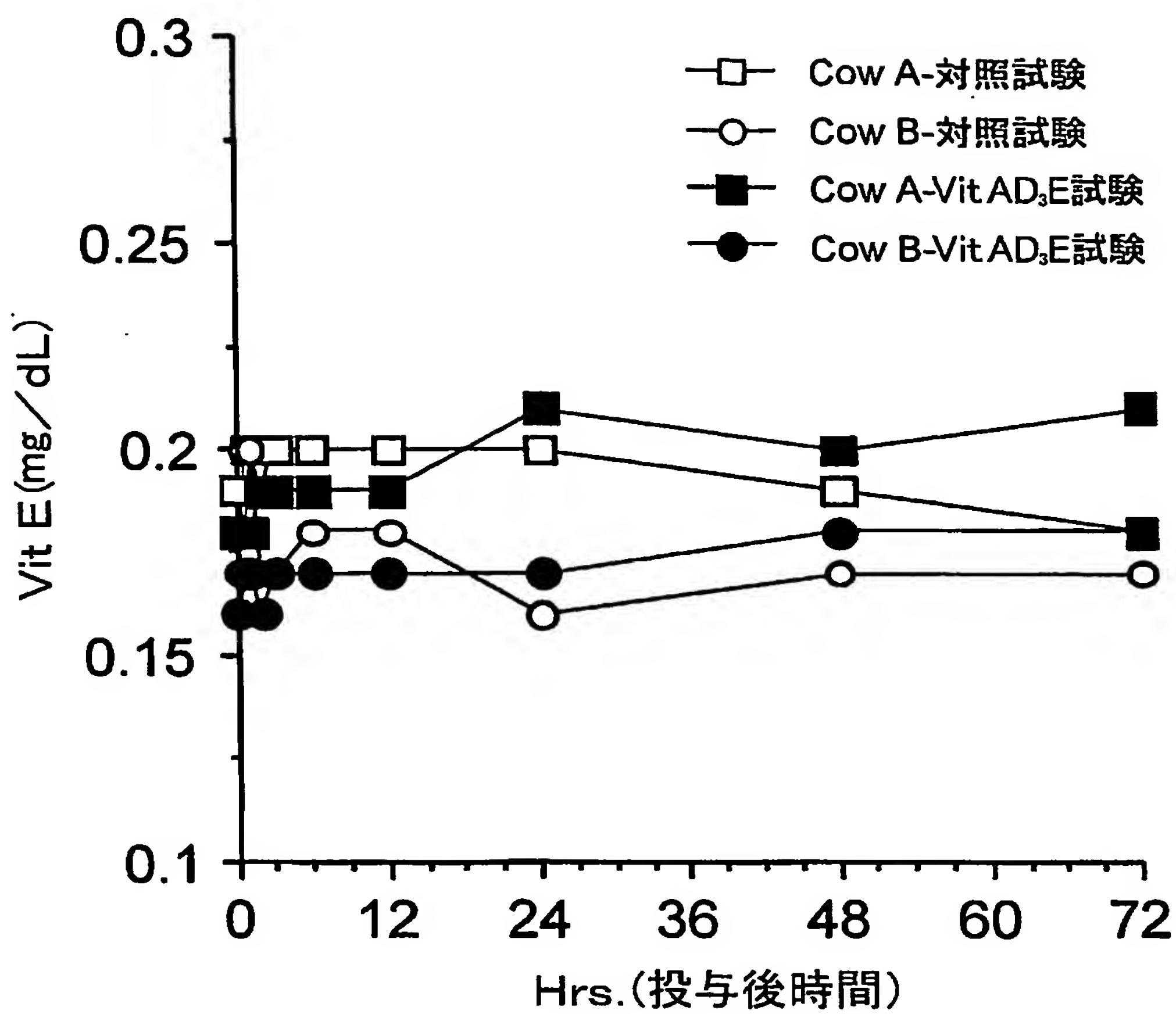


図 7

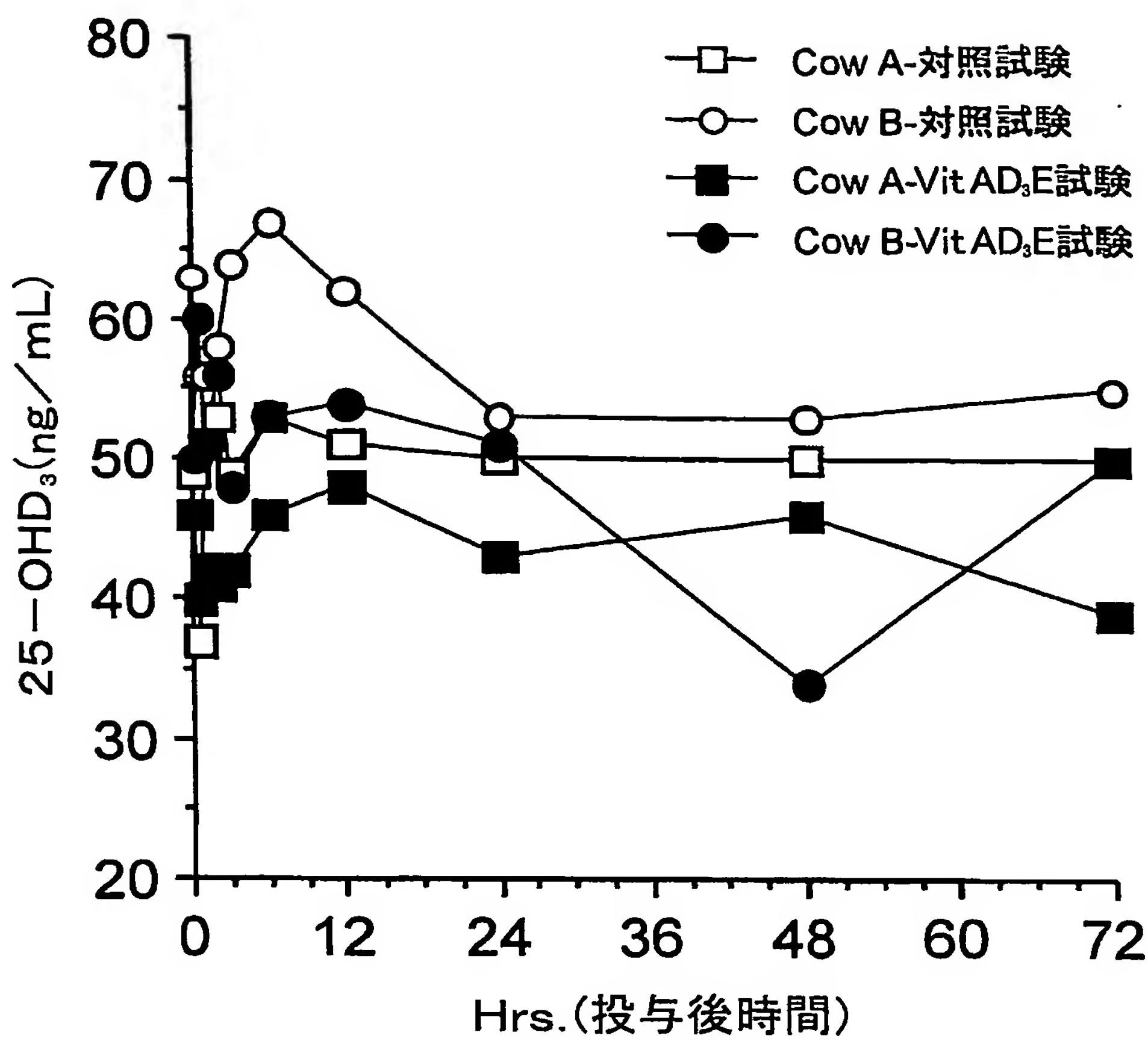


図 8

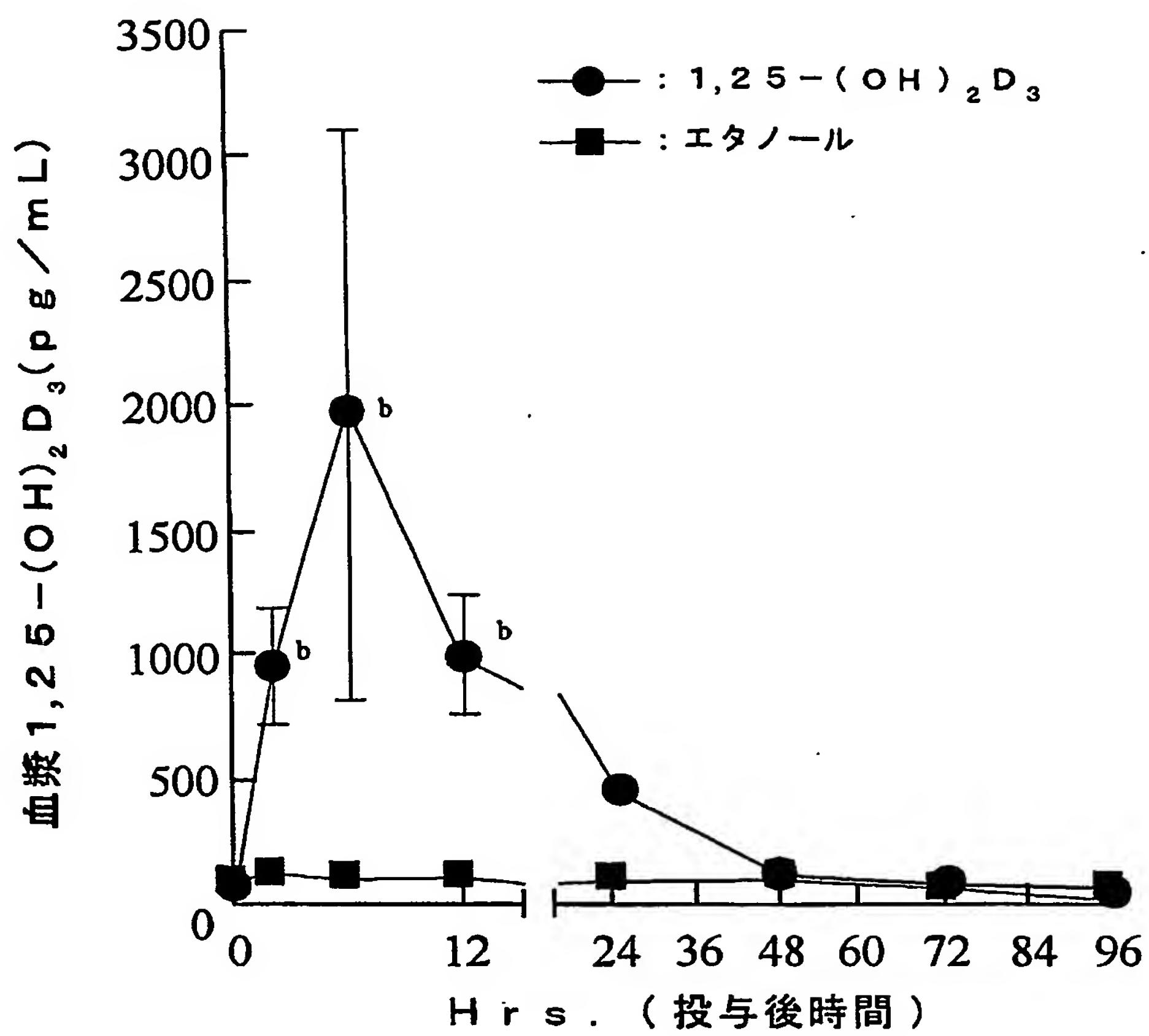


図 9

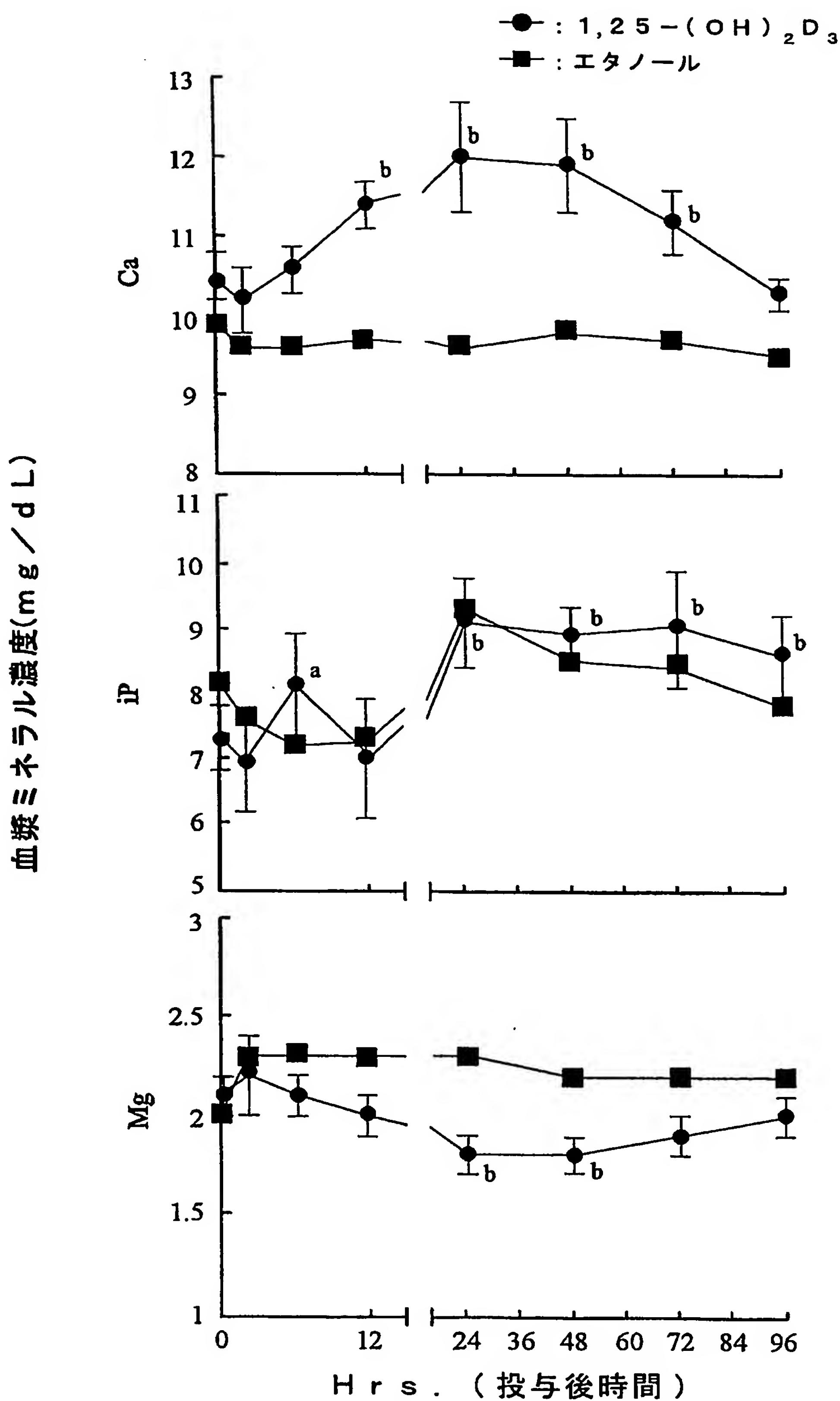


図 10

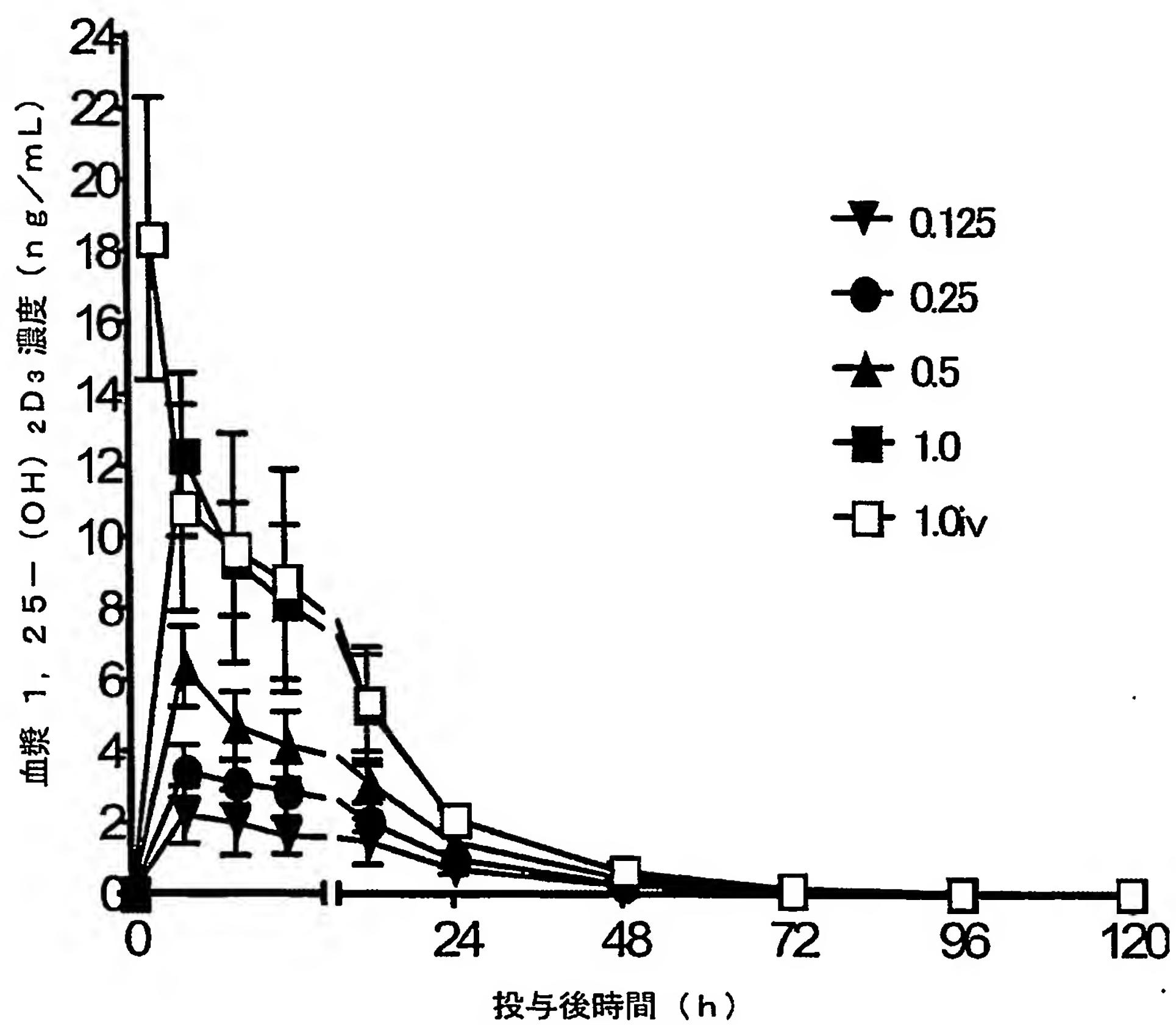


図 1 1

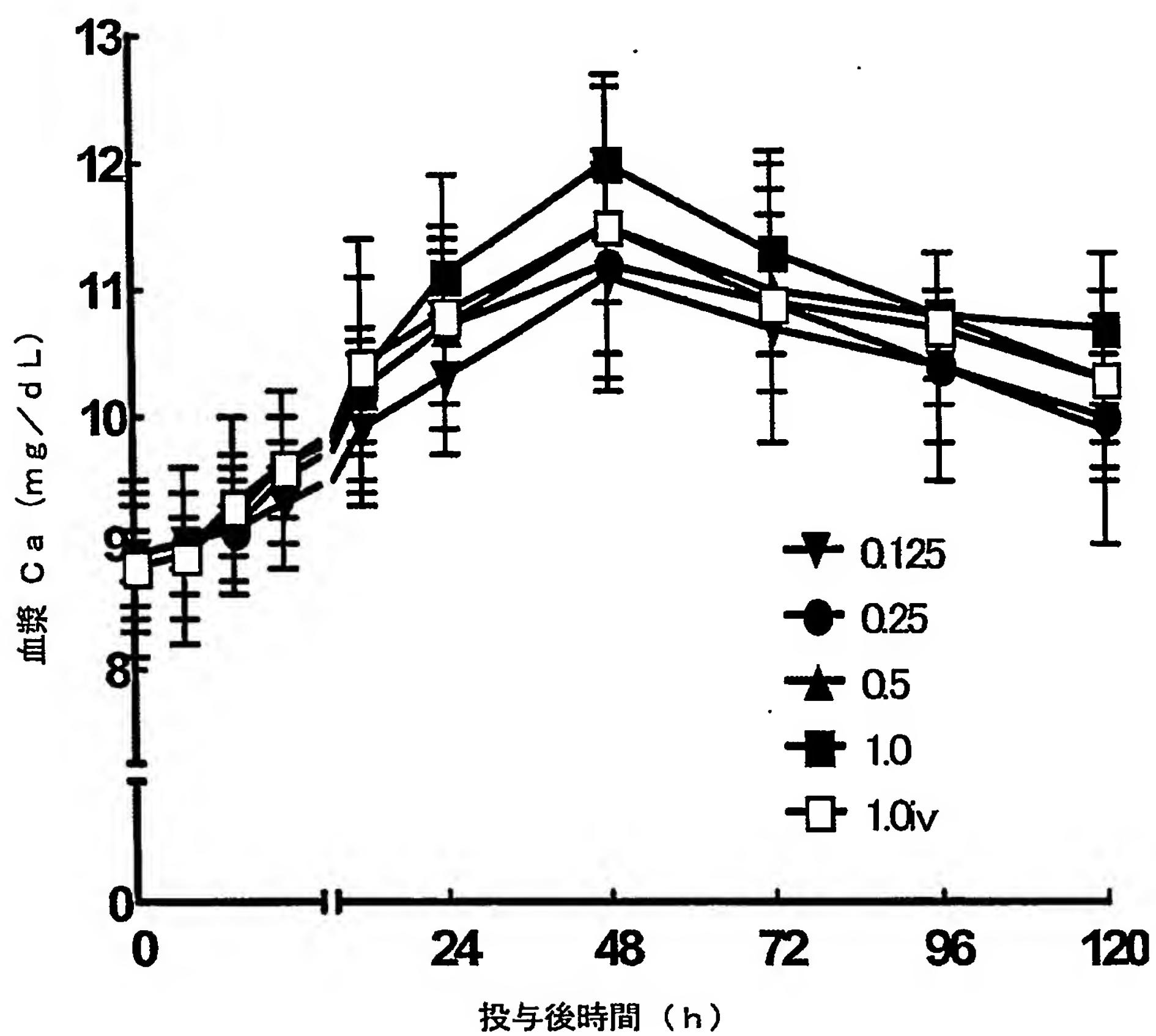


図 1 2

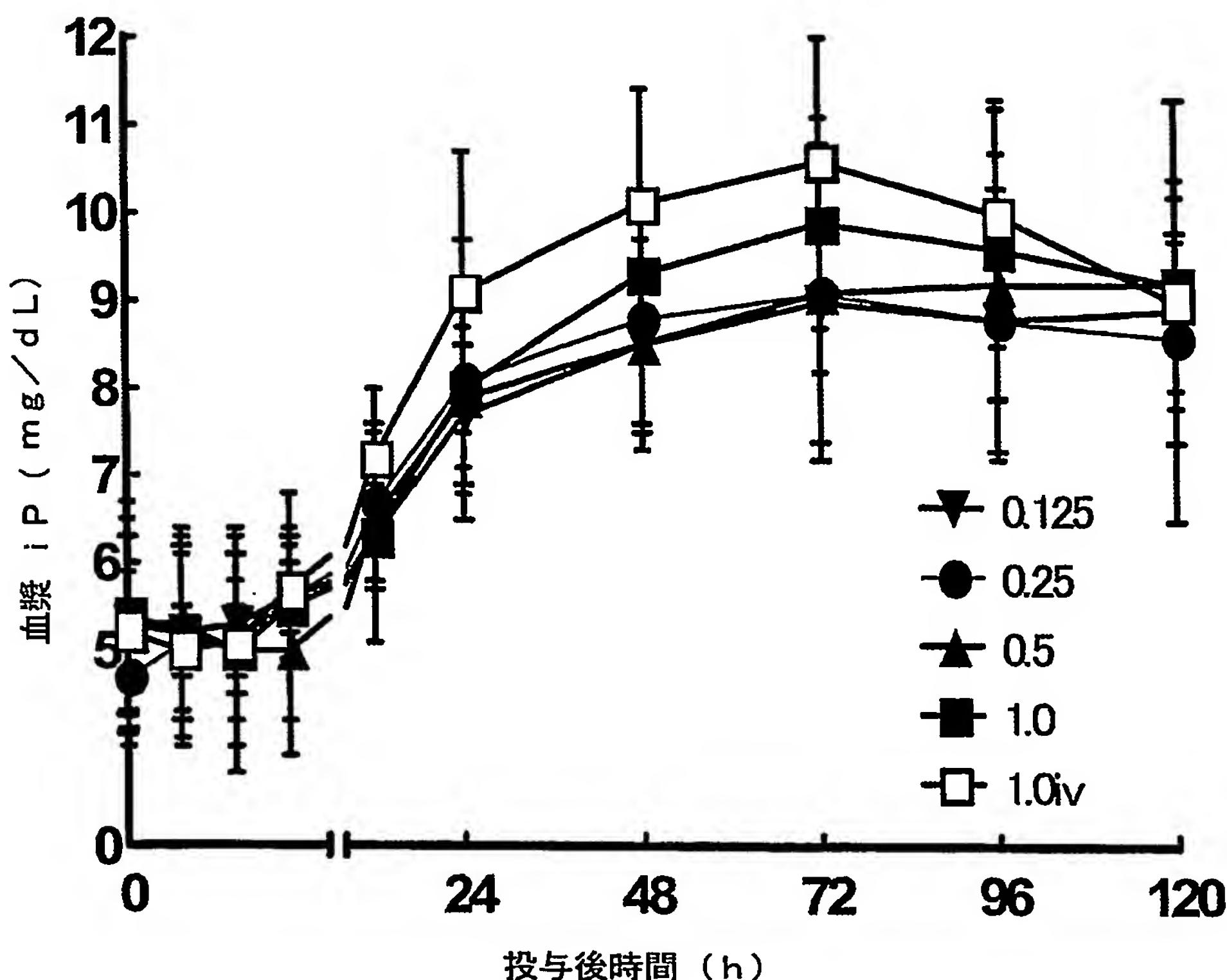


図 1 3

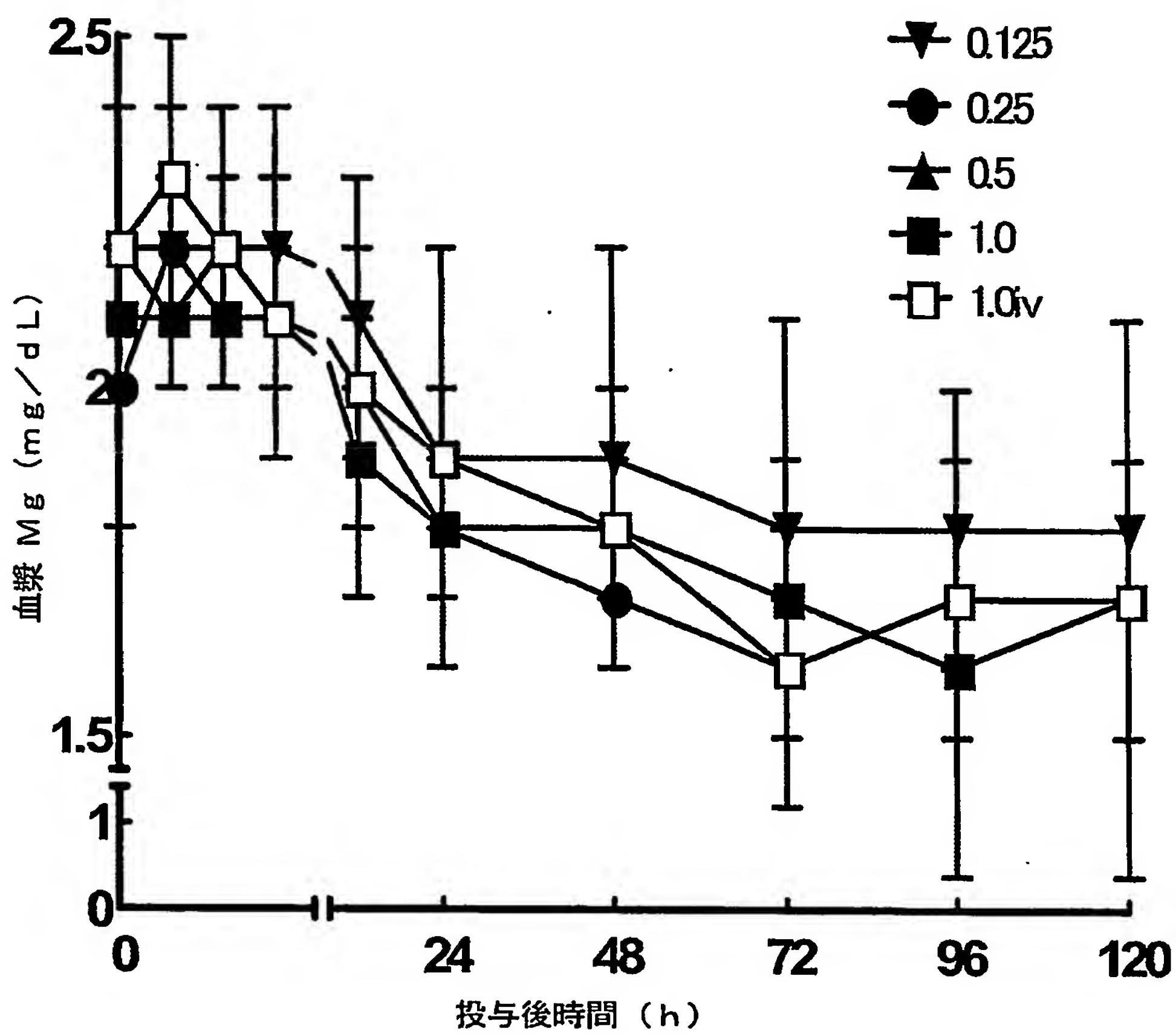


図 1 4

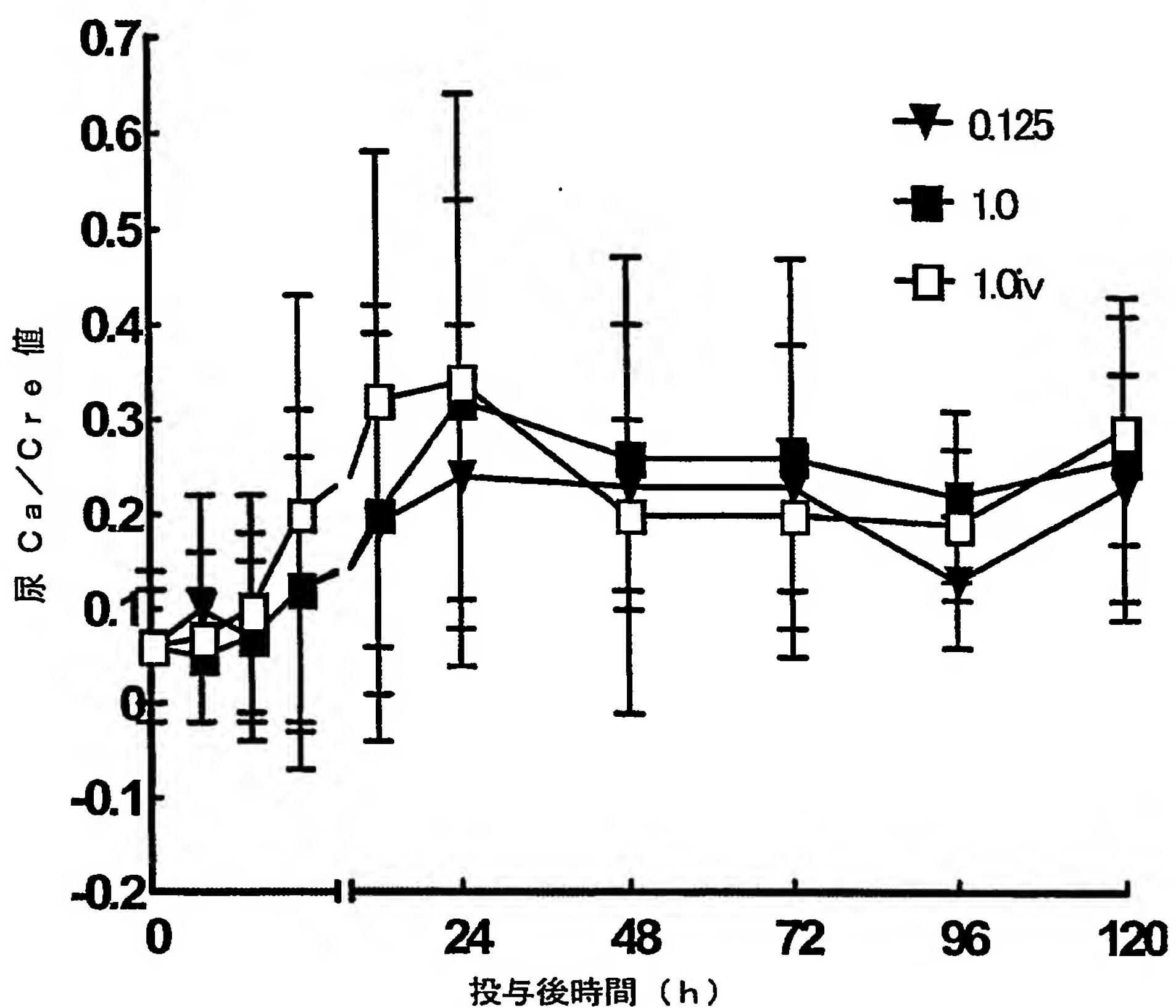


図 15

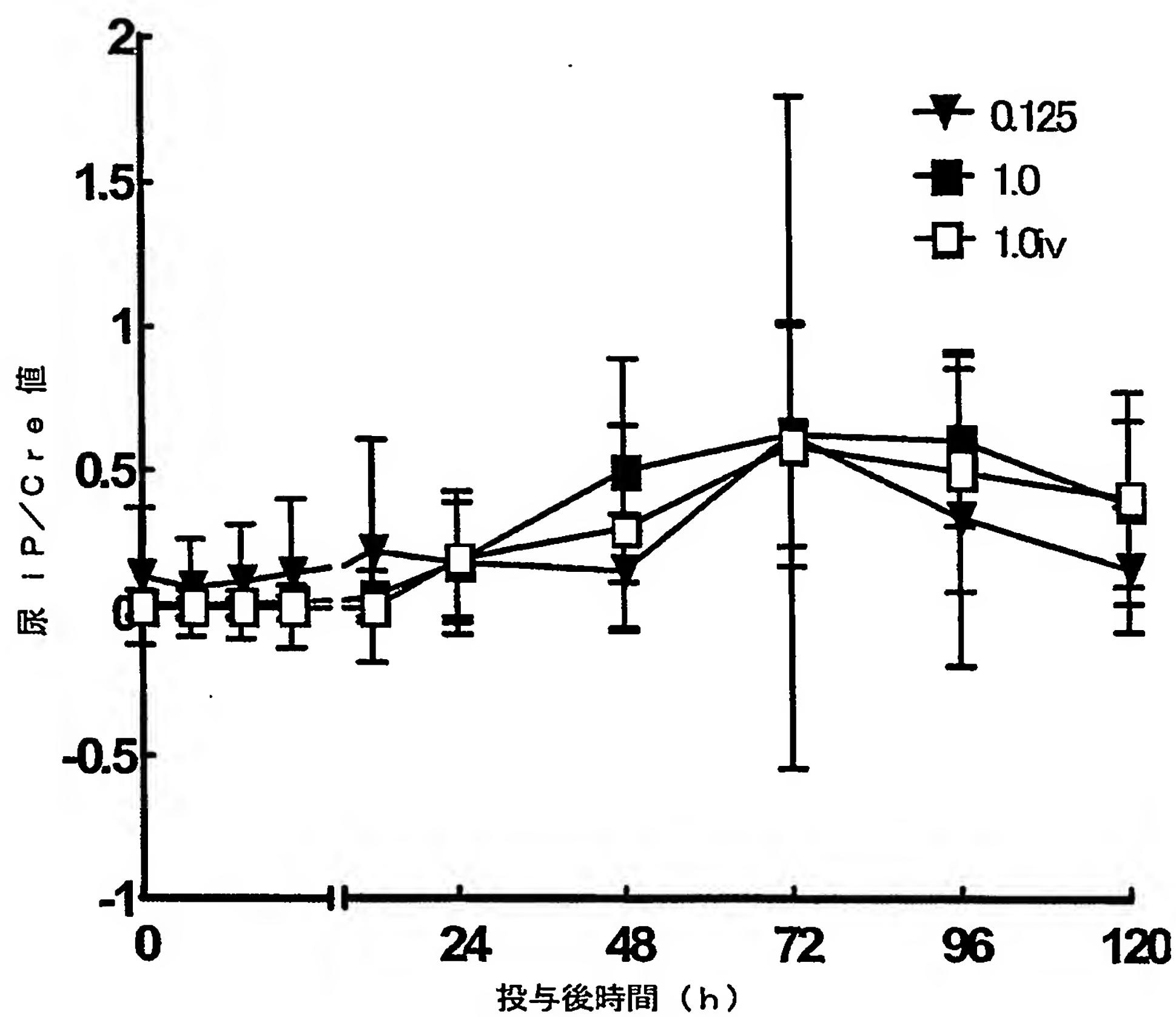
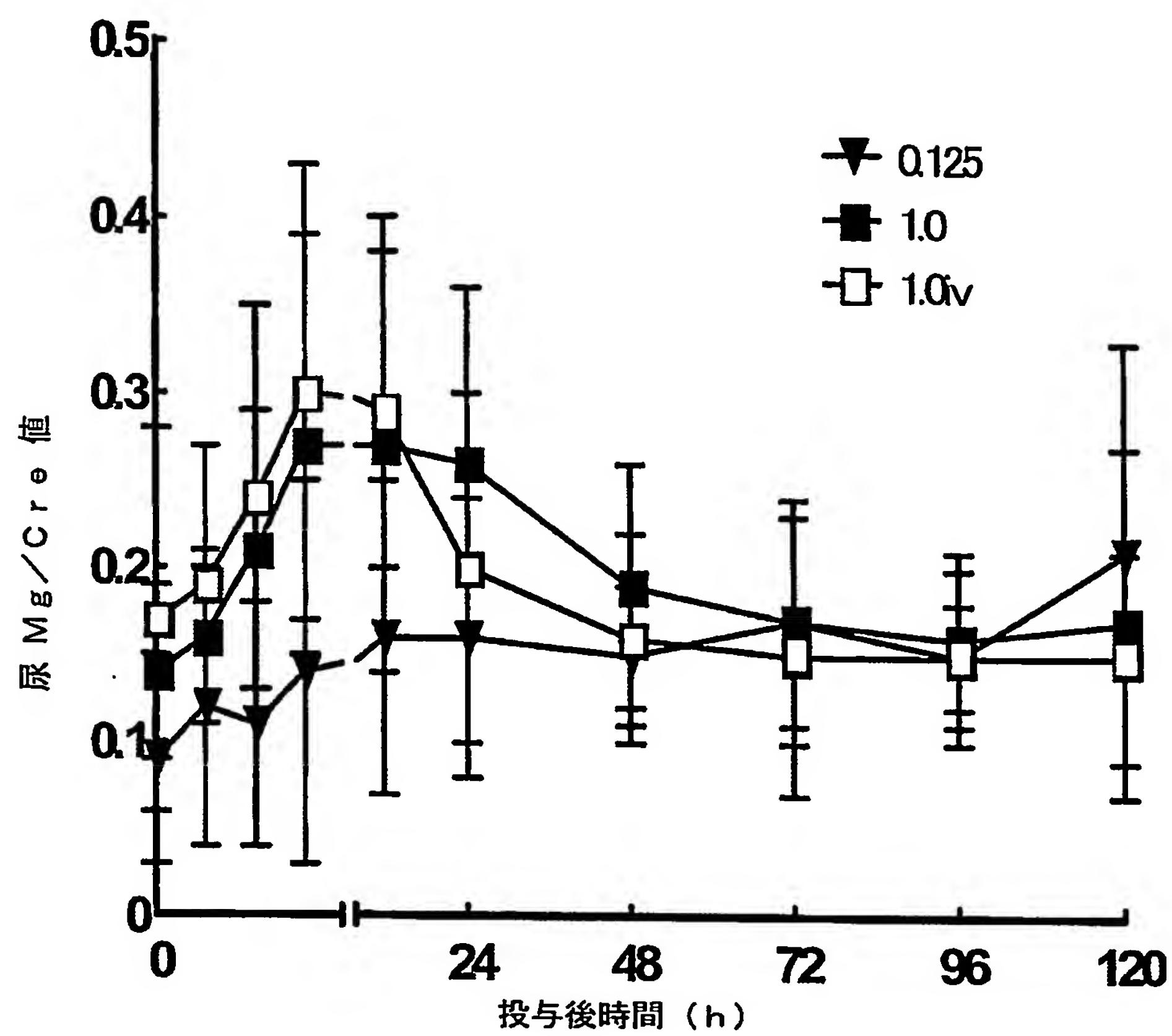


図 16



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002959

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61K31/593, A61P3/02, 3/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAplus (STN), JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RO 105130 B1 (INST MEDICINA FARMACIE), 01 October, 1995 (01.10.95), Abstract (Family: none)	1-15
Y	JP 03-501388 A (BONE CARE INTERNATIONAL, INC.), 28 March, 1991 (28.03.91), Full text & WO 90-001321 A2	1-15
Y	JP 61-233620 A (Research Institute for Medicine and Chemistry Inc.), 17 October, 1986 (17.10.86), Full text & US 3901928 A	1-15

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
16 May, 2005 (16.05.05)

Date of mailing of the international search report
31 May, 2005 (31.05.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.7 A61K31/593, A61P3/02, 3/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.7 A61K31/593, A61P3/02, 3/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus(STN), JSTPlus(JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	RO 105130 B1 (INST MEDICINA FARMACIE), 1995.10.01, アブストラクト (ファミリーなし)	1-15
Y	JP 03-501388 A (ボーン・ケア・インターナショナル・インコーポレイテッド) 1991.03.28, 全文 & WO 90-001321 A2	1-15

 C欄の続きにも文献が列挙されている。

〔 パテントファミリーに関する別紙を参照。 〕

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16.05.2005

国際調査報告の発送日

31.5.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

川口 裕美子

4C 9829

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 61-233620 A (リサーチ・インスティチュート・フォア・メディスン・アンド・ケミストリー・インコーポレイテッド) 1986. 10. 17, 全文 & US 3901928 A	1-15